

**PEMANFAATAN ASAP CAIR TEMPURUNG KELAPA UNTUK
MENGENDALIKAN CENDAWAN PENYEBAB PENYAKIT
ANTRAKNOSA DAN LAYU FUSARIUM PADA KETIMUN**
*(Use of Liquid Smoke from the Destructively-Distilled Coconut Shell
to Control the Fungi that Cause Anthracnose and Fusarium Wilt Diseases
on Cucumber Plants)*

Imas Aisyah¹, Nuryati Juli² & Gustan Pari³

¹*VEDCA (Vocational Education Development Center for Agriculture) in Cianjur (West Java)*

²*School of Biosciense and Biotechnology, Bandung Technology Institute, Bandung*

³*The Center for Research and Development on Forest Engineering and Forest Products Processing
Bogor (West Java)*

Diterima 12 Juni 2012, disetujui 26 Juni 2013

ABSTRACT

The liquid smoke obtained from the destructive distillation on coconut shell) at 0,25-6,0% concentration-range could in vitro to inhibit the colony growth of fungi, i.e. Colletotrichum gloeosporoides and Fusarium oxysporum species as much as consecutively 5,59-97,85% and 6,06-94,97%. At 7% liquid-smoke concentration the inhibition reached 100% (for both spescies). The liquid smoke obtained from 400⁰C distillation temperature could inhibit fungi growth the most effectivelly, i.e. 16,26% for Colletotrichum gloeosporoides and 15.06% for Fusarium oxysporum. In vivo, the liquid smoke at 0,5%, 1%, and 5% concentration- was effective to repard (up to 100%) the anthracnose disease as well as fusarium-wilt that attacked the host cucumber plants. However, the liquid-smoke use at 5% was not recomended due to inflicting necrosis on cucumber leaves.

Keywords: Liquid smoke, destructive distillation, coconut shell, anti-fungal action, fungi-caused diseases, cucumber plants

ABSTRAK

Asap cair hasil destilasi kering tempurung kelapa pada konsentrasi antara 0,25-6,0% mampu menghambat pertumbuhan koloni cendawan baik pada *Colletotrichum gloeosporoides* maupun *Fusarium oxysporum*. Penghambatan asap cair pada koloni *Colletotrichum gloeosporoides* dan *Fusarium oxysporum* masing-masing sebesar 5,59-97,85% dan 6,06-94,97%. Penghambatan sampai 100% untuk kedua cendawan, dimulai pada konsentrasi 7%. Asap cair yang dihasilkan dari pemanasan 400⁰C menunjukkan hambatan koloni cendawan paling tinggi, yaitu sebesar 16.26% untuk *Colletotrichum gloeosporoides* dan 15,06% untuk *Fusarium oxysporum*. Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa asap cair dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 5%, efektif menghambat perkembangan penyakit antraknosa dan layu fusarium, sampai 100%. Meskipun demikian, asap cair dengan konsentrasi 5% tidak dianjurkan, karena dapat menyebabkan nekrosis pada daun ketimun.

Kata kunci : Asap cair, destilasi kering, tempurung kelapa, antifungi, fungi penyebab penyakit, ketimun

I. PENDAHULUAN

Kegagalan panen disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah oleh adanya penyakit tanaman yang disebabkan oleh mikroba. Banyak jenis cendawan yang menjadi penyebab penyakit tumbuhan, antara lain adalah penyakit antraknosa dan layu fusarium. Penyakit antraknosa dan layu fusarium adalah dua penyakit yang seringkali menyerang berbagai tanaman dan menimbulkan kerugian bagi para petani. Oleh karena itu, berbagai usaha dilakukan untuk mengendalikan penyakit-penyakit tersebut, di antaranya dengan menggunakan pestisida anorganik. Pestisida anorganik dalam penerapannya, telah terbukti dapat menekan kerugian/kerusakan hasil pertanian akibat organisme pengganggu, sehingga sampai saat ini peran pestisida tidak dapat dilepaskan dalam pencapaian target produksi. Namun di sisi lain, pestisida anorganik berdampak negatif. Ini disebabkan pestisida anorganik biasanya disintesa dari bahan yang tidak terbarukan (seperti batubara dan minyak bumi) sehingga umumnya beracun dan berdampak negatif terhadap lingkungan.

Mengingat kemungkinan efek samping yang ditimbulkannya, maka perlu dikembangkan pestisida yang bersifat mudah terdegradasi secara alami, bersifat toksik terhadap mikroorganisme sasaran, tetapi tidak bersifat toksik terhadap manusia dan binatang disekitarnya, tidak mencemari lingkungan, dan tidak berbahaya bagi kesehatan manusia (Soetarno, 1994). Salah satu alternatif pestisida untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan mengembangkan bahan bioaktif berasal dari tumbuhan. Diantara bahan bioaktif adalah asap cair (*liquid smoke*) yang diperoleh dari hasil kondensasi fraksi uap/gas yang terbentuk selama proses pengarangan (destilasi kering) kayu atau bahan berserat berlignin selulosa lain. Bahan bioaktif yang dihasilkan oleh tumbuhan biasanya memiliki kemampuan alelopati. Alelopati adalah suatu fenomena alam dimana suatu organisme memproduksi dan mengeluarkan suatu senyawa biomolekul (disebut alelokimia) ke lingkungan dan senyawa tersebut mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan organisme lain di sekitarnya (Rizvi, 1992). Asap cair hasil destilasi kering kayu, atau bahan berlignin selulosa lainnya

diperkirakan memiliki kemampuan alelopati, sehingga bisa menjadi salah satu bahan alternatif pestisida anorganik di masa mendatang.

Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa asap cair hasil destilasi kering kayu jati, bakau, karet dan tusam dengan pemanasan suhu 500°C selama lima jam, mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas solanacearum* dan cendawan *Sclerotium rolfsii* secara *in vitro* (Nurhayati, 2000).

Terkait dengan segala uraian, berikut ini ditelaah hasil percobaan bermanfaat asap cair hasil destilasi kering tempurung kelapa untuk mengendalikan cendawan penyebab penyakit antraknosa dan layu fusarium pada tanaman ketimun.

II. BAHAN, ALAT DAN METODE

A. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tempurung kelapa (bahan untuk membuat asap cair), biakan murni cendawan *Colletotrichum gloeosporoides* dan *Fusarium oxysporum*, medium PDA (*potato dextrose agar*) untuk memperbanyak dan mengaktivasi biakan murni cendawan. Larutan fisiologis NaCl 0.85% untuk mempertahankan spora cendawan supaya tetap hidup, asam laktat 10% untuk mencegah pertumbuhan bakteri yang lebih cepat daripada jamur, air suling steril untuk pengenceran, alkohol 95%, spirtus, dan ketimun sebagai tanaman inang.

B. Alat

Alat yang digunakan terdiri atas alat pirolisis yang terdapat di Pusat Penelitian dan Pengembangan Keteknikan Kehutanan dan Pengolahan Hasil Hutan Bogor (Gambar 1).

Alat-alat yang lainnya adalah penyuling air, *laminar air flow*, autoklaf, alat-alat gelas (tabung reaksi, cawan petri, gelas piala dan gelas ukur) dan perlengkapan untuk uji efektivitas asap cair secara *in vitro* dan *in vivo*.

C. Metode Penelitian

Rincian tahapan kerja dan tata cara penelitian disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. Pirolisator yang terdapat di Pusat Penelitian dan Pengembangan Keteknikan Kehutanan dan Pengolahan Hasil Hutan Bogor

Figure 1. Pyrolisator in Center for Research and Development on Forestry Engineering and Forest Products Processing, Bogor (West Java)

D. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan untuk menelaah data hasil uji efektivitas asap cair secara *in vitro* adalah rancangan acak lengkap faktorial dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi asap cair (A) dengan 10 taraf, yaitu: 0%, 0,25%, 0,5%, 1%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% dan 10% (v/v). Faktor kedua adalah suhu pembuatan asap cair (B), dengan 4 taraf, yaitu: 200°C, 300°C, 400°C dan 500°C.

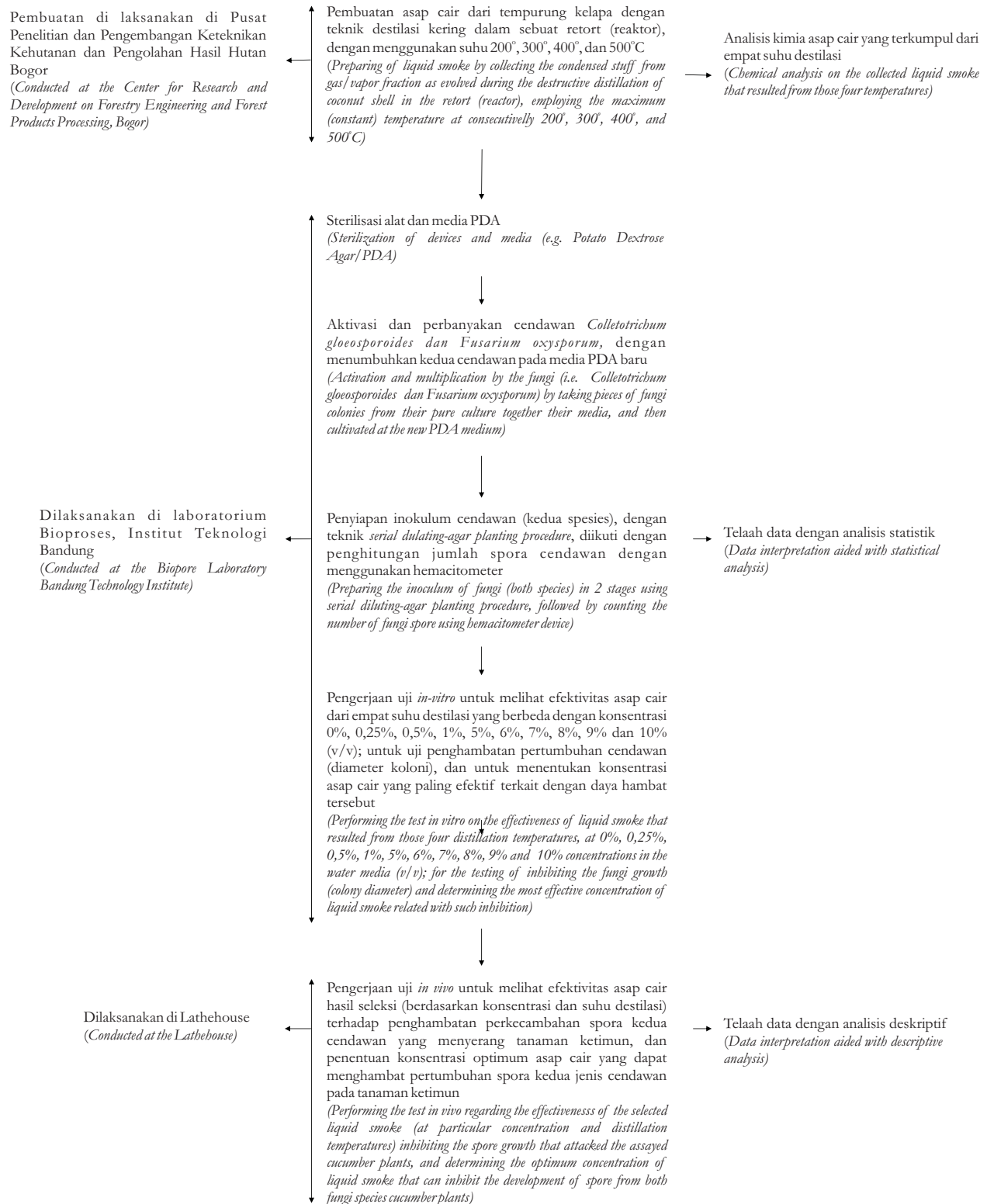
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Uji Efektivitas Asap Cair Secara *In-vitro*

Asap cair terindikasikan mulai menghambat pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporoides* dan *Fusarium oxysporum* pada konsentrasi 0,25% (Tabel 1 dan 2). Asap cair dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 5% dan 6%, dapat menghambat pertumbuhan cendawan *Colletotrichum gloeosporoides*

dan *Fusarium oxysporum*, dengan persentase penghambatan berturut-turut sebesar 5,59%, 17,71%, 42,78%, 95,74% dan 97,68% (untuk *Colletotrichum gloeosporoides*), dan 6,06%, 19,14%, 43,46%, 94,97% dan 97,85% (untuk *Fusarium oxysporum*). Penghambatan sampai 100% pada kedua jenis cendawan tersebut, mulai terjadi pada konsentrasi 7% (Tabel 3 dan 4).

Asap cair yang dihasilkan dari pemanasan (destilasi kering) bahan serat berlignin-selulosa (tempurung kelapa) pada suhu 400°C, berindikasi menyebabkan hambatan pertumbuhan cendawan paling tinggi, sehingga digunakan untuk uji efektivitas asap cair secara *in-vitro* dan *in vivo*. Asap cair dari bahan baku tempurung kelapa, memiliki kemampuan fungsional sebagai antibakteri dan antifungi, karena di dalamnya terkandung senyawa-senyawa fungsional seperti alkohol, fenol dan asam organik. Efek antimikrobia asam dari asap cair, diduga secara langsung dapat mengasamkan sitoplasma, merusak tegangan permukaan membran dan hilangnya transport aktif makanan melalui membran sehingga



Gambar 2. Tata cara kerja penelitian efektivitas asap cair dari tempurung kelapa mengontrol pertumbuhan cendawan penyebab antraknosa dan layu fusarium

Figure 2. Staged work detailing the research about the effectiveness of liquid smoke from coconut shell on controlling the growth of fungi that cause antracnose and fusarium wilt diseases

menyebabkan destabilisasi bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel (Ray and Sandine, 1993; Ray, 1996), sedangkan mekanisme aktivitas senyawa antimikrobia fenol antara lain: a) reaksi dengan membran sel yang menyebabkan terganggunya kerja permeabilitas membran sel, b) inaktivasi enzim-enzim esensial, c) kerusakan atau inaktivasi fungsional material genetik d) bekerja sebagai penghidrolisis lipid, sehingga merusak membran sel (Davidson and Branen, 1981). Selanjutnya Duke (1985) mengatakan senyawa fenolat yang diisolasi dari tumbuhan tinggi dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan menghambat sintesis asam amino dan fenilalanin amoniase. Vickery & Vickery (1981) menyatakan senyawa fenolat mempengaruhi fungsi mitokondria sehingga mengganggu respirasi sel. Hal ini menyebabkan penghambatan pertumbuhan jamur tersebut.

Alkohol, fenol dan asam asetat juga diindikasikan merupakan senyawa-senyawa yang memiliki fungsi sinergi sebagai denaturasi protein dan penghidrolisis lipid, sehingga dapat merusak membran sel pada jaringan tubuh cendawan dan menginaktivasi enzim yang diskresikan cendawan tersebut (Pelczar, 1988). Kerusakan protein dan lipid pada membran sitoplasma sel, menyebabkan membran tersebut menjadi bocor dan akibatnya permeabilitas membran sel menjadi terganggu. Ini mengakibatkan membran menjadi tidak bersifat semi permeabel, sehingga kerja enzim permease pada membran yang menjadi tempat keluar masuknya senyawa-senyawa tertentu ke dalam sel menjadi terganggu, dan akhirnya mengganggu penyerapan nutrisi, dan jika aktivitas penyerapan nutrisi dari inang untuk metabolismenya terganggu, bisa mengakibatkan terganggunya aktivitas biologis dan fisiologis cendawan dan akhirnya menyebabkan kematian-nya. Fardiaz (1992).

Fenomena ini mengindikasikan bahwa asap cair hasil destilasi kering menggunakan suhu 400°C, memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan hasil pada suhu 200°C, 300°C dan 500°C. Asap cair hasil destilasi kering dengan pemanasan suhu 400°C, juga memiliki pH yang sangat asam (2,78), dibandingkan dengan pH pada suhu lainnya, sehingga tingkat keasaman asap cair tersebut juga paling tinggi. Kadar alkohol, asam asetat dan fenol tertinggi juga diperoleh dari asap cair hasil destilasi kering dengan 400°C, yaitu

berturut-turut sebesar 50,46%, 13,26% dan 10,419%. Kadar total senyawa tersebut (alkohol, asam asetat dan fenol) pada suhu 400°C, mencapai 74,139%. Berdasarkan hasil percobaan yang dilakukan oleh Klason (1909) dalam Antal and Gronli (2003), bahwa pada suhu pemanasan 400°C, komponen kimia dalam bahan berserat (lignin-selulosa kayu) akan mengalami penguraian membentuk arang, uap ter, gas karbon dioksida (CO₂), karbon monoksida (CO), metana (CH₄), hidrogen (H₂) dan (H₂O) secara luas, sehingga pada suhu ini pembentukan asam asetat, alkohol dan fenol mencapai intensitas tertinggi (Kuriyama, 1960 dalam Hendra, 1997).

B. Hasil Uji Efektivitas Asap Cair secara *In-vivo*

Asap cair hasil destilasi kering yang digunakan untuk uji *in vivo* adalah hasil pada suhu 400°C, dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 5%. Pada konsentrasi tersebut, ternyata asap cair efektif menghambat perkecambahan spora *Fusarium oxysporum* dan *Colletotrichum gloeosporoides*, dengan daya hambat masing-masing sebesar 100%, akan tetapi asap cair pada konsentrasi 5%, menyebabkan kerusakan (nekrosis) pada daun tumbuhan inang (ketimun), sehingga tidak dianjurkan penggunaan asap cair pada konsentrasi tersebut. khususnya pada ketimun.

IV. KESIMPULAN

1. Asap cair hasil destilasi kering tempurung kelapa berindikasi kuat mampu menghambat pertumbuhan cendawan *Colletotrichum gloeosporoides* dan *Fusarium oxysporum* secara *in vitro* dan *in vivo*.
2. Asap cair dengan konsentrasi 0.25%, 0.5%, 1%, 5% dan 6%, dapat menghambat pertumbuhan koloni cendawan *Colletotrichum gloeosporoides* sebesar (5,59 - 97,68%) dan *Fusarium oxysporum* (6,06 - 97,85%) secara *in-vitro*.
3. Penghambatan sampai 100%, pada kedua cendawan, terjadi pada konsentrasi 7%.
4. Asap cair yang dihasilkan dari destilasi kering suhu 400°C., menunjukkan hambatan pertumbuhan cendawan paling tinggi, yaitu sebesar 16,26% untuk *Colletotrichum gloeosporoides* dan 15,06% untuk *Fusarium oxysporum*.

Tabel 1. Rata-rata diameter koloni *Colletotrichum gloeosporoides* (cm) pada hari ke tujuh di kultivasi pada media PDA dengan perlakuan asap cair pada berbagai konsentrasi (%), dan suhu destilasi kering (°C)

Table 1. The average diameter (cm) of fungi colony for Colletotrichum gloeosporoides on the seventh day following the fungi cultivation on the PDA medium treated with liquid smoke at various concentrations (%), employing various destructive distillation temperates (°C) as well

Suhu (Temperature) (°C)	Konsentrasi (Concentration) (%)										Rata-rata (Average)
	0	0,25	0,5	1	5	6	7	8	9	10	
200	4,85	4,80	4,30	3,32	0,24	0,20	0	0	0	0	1,77 a
300	4,85	4,80	4,25	3,30	0,21	0,15	0	0	0	0	1,76 a
400	4,90	4,35	3,55	1,85	0,18	0	0	0	0	0	1,48 a
500	4,85	4,41	3,90	2,65	0,20	0,10	0	0	0	0	1,61 a
Rata-rata (Average)	4,89d	4,59cd	4,00c	2,78b	0,21a	0,11a	0a	0a	0a	0a	

Keterangan (Remarks): Angka yang diikuti huruf sama tidak berbeda nyata (Figures followed with the same letters are not significantly different):
a > b > c

Tabel 2. Rata-rata diameter koloni *Fusarium oxysporum* (cm) pada hari ke tujuh di kultivasi pada media PDA dengan perlakuan asap cair pada berbagai konsentrasi (%), dan suhu destilasi kering (°C)

Table 2. The average diameter (cm) of fungi colony for Fusarium oxysporum on the seventh day following the fungi cultivation on the PDA medium treated with liquid smoke at various concentrations (%), employing various destructive distillation temperates (°C) as well

Suhu (Temperature) (°C)	Konsentrasi (Concentration) (%)										Rata-rata (Average)
	0	0,25	0,5	1	5	6	7	8	9	10	
200	4,85	4,75	4,35	3,29	0,40	0,16	0	0	0	0	1,78 a
300	4,85	4,70	4,14	3,10	0,30	0,14	0	0	0	0	1,72 a
400	4,90	4,37	3,55	2,20	0,10	0	0	0	0	0	1,51a
500	4,95	4,54	3,76	2,45	0,18	0,12	0	0	0	0	1,60a
Rata-rata (Average)	4,89 d	4,59 cd	3,95 c	2,76 b	0,25a	0,11 a	0 a	0 a	0 a	0 a	

Keterangan (Remarks): Angka yang diikuti huruf sama tidak berbeda nyata (Figures followed with the same letters are not significantly different): a > b > c

5. Asap cair dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 5%, efektif menghambat perkembangan penyakit antraknosa dan layu fusarium pada tanaman inang ketimun, dengan daya hambat masing-masing tanaman inang

100%, tetapi asap cair konsentrasi 5%, menyebabkan nekrosis pada daun sehingga tidak dianjurkan menggunakan asap cair dengan konsentrasi ini, khususnya pada inang ketimun.

Tabel3. Indikasi penghambatan fungi dengan pengurangan diameter koloni (%) untuk *Colletotrichum gloeosporoides* pada hari ke tujuh di kultivasi pada media PDA dengan perlakuan asap cair pada berbagai konsentrasi (%), dan suhu destilasi kering (°C)

Table 3. Inhibition of fungi growth indicated by reduction (%) in diameter of its corresponding colony for *Colletotrichum gloeosporoides* on the seventh day following the fungi cultivation on the PDA medium treated with liquid smoke at various concentrations (%), employing various destructive-destillation temperates (°C) as well

Suhu (Temperature) °C	Konsentrasi (Concentration) (%)								
	0.25	0.5	1	5	6	7	8	9	10
200	1,03	11,34	31,55	95,05	95,88	100	100	100	100
300	1,03	12,37	31,96	95,67	96,91	100	100	100	100
400	11,22	27,55	62,24	96,33	100	100	100	100	100
500	9,07	19,59	45,36	95,88	97,94	100	100	100	100
Rata-rata (Average)	5,59	17,71	42,78	95,74	97,68	100	100	100	100

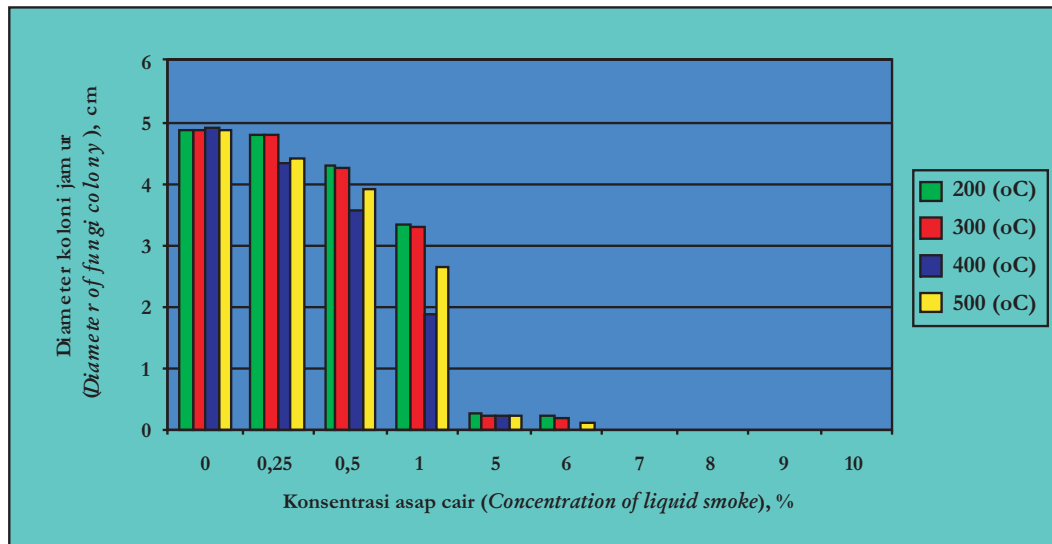
*) dalam persen (*in percent*) (%), menggunakan rumus (*obtained using the formula*): $100 \times (D_o - D_k)$, dimana (*where*) D_o =diameter koloni pada konsentrasi 0% (*colony diameter at 0% concentration*), dan (*and*) D_k =diameter koloni pada konsentrasi k% (*colony diameter at k% concentration*; k=0.25%, 0.5%, 1%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan (*and*) 10%

Tabel4. Indikasi penghambatan fungi dengan pengurangan diameter koloni (%) untuk *Fusarium oxysporum* pada hari ke tujuh di kultivasi pada media PDA dengan perlakuan asap cair pada berbagai konsentrasi (%), dan suhu destilasi kering (°C)

Table 4. Inhibition of fungi growth indicated by reduction (%) in diameter of its corresponding colony for *Fusarium oxysporum* on the seventh day following the fungi cultivation on the PDA medium treated with liquid smoke at various concentrations (%), employing various destructive-destillation temperates (°C) as well

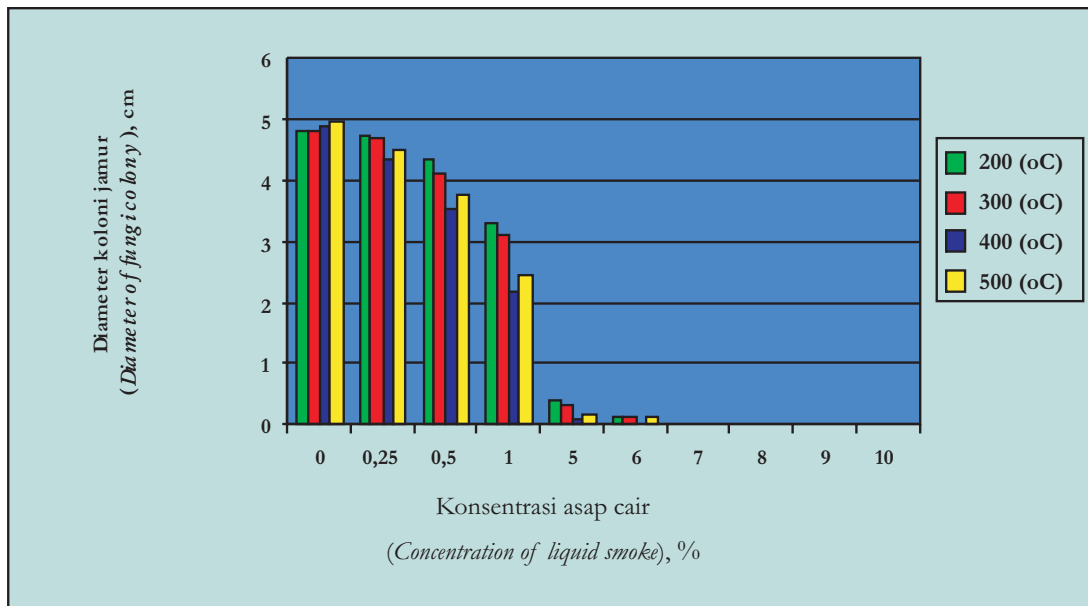
Suhu (Temperature) °C	Konsentrasi (Concentration) (%)								
	0.25	0.5	1	5	6	7	8	9	10
200	2,06	10,31	32,16	91,75	96,70	100	100	100	100
300	3,09	14,64	36,08	93,81	97,96	100	100	100	100
400	10,82	27,55	55,10	97,96	100	100	100	100	100
500	8,28	24,04	50,51	96,36	97,58	100	100	100	100
Rata-rata (Average)	2,06	10,31	32,16	91,75	96,70	100	100	100	100

*) dalam persen (*in percent*) (%), menggunakan rumus (*obtained using the formula*): $100 \times (D_o - D_k)$, dimana (*where*) D_o =diameter koloni pada konsentrasi 0% (*colony diameter at 0% concentration*), dan (*and*) D_k =diameter koloni pada konsentrasi k% (*colony diameter at k% concentration*; k=0.25%, 0.5%, 1%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan (*and*) 10%



Gambar 2. Ilustrasi histogram rata-rata diameter koloni cendawan *Colletotrichum gloeosporoides* pada hari ke tujuh di kultivasi pada media PDA dengan perlakuan asap cair pada berbagai suhu destilasi kering ($B, ^\circ C$)

Figure 2. The histogram illustrating the average diameter of fungi colony for *Colletotrichum gloeosporoides* on the seventh day following the fungi cultivation on the PDA medium treated with liquid smoke, employing various destructive-distillation temperatures ($^\circ C$) as well



Gambar 3. Ilustrasi histogram rata-rata diameter koloni cendawan *Colletotrichum gloeosporoides* pada hari ke tujuh di kultivasi pada media PDA dengan perlakuan asap cair pada berbagai suhu destilasi kering ($B, ^\circ C$)

Figure 3 The histogram illustrating the average diameter of fungi colony for *Colletotrichum gloeosporoides* on the seventh day following the fungi cultivation on the PDA medium treated with liquid smoke, employing various destructive-distillation temperatures ($^\circ C$) as well

DAFTAR PUSTAKA

- Antal, M. J., Gronli, M. 2003. *The art, science, and technology of charcoal production*. Ind. Eng. Chem. Res, 42, 1619-1640.
- Duke, S. O. 1985. *Biosynthesis of phenolic compounds, chemical higher plant*. Dalam: *The chemistry of allelopathy*, Ed. Thomson, A.C. American Chemicals Society. Washington D.C., pp 113-131.
- Davidson, P.M., Branen, A.L. 1981. Antimicrobial Activity of Non- Halogenated Phenolic Compound. J.of Food Prot.44 (8) : 623-632.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi pangan 1*. IPB. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 123 - 126.
- Hendra, D. 1997. Hasil pyrolisis dan nilai kalor dari 8 jenis kayu di Indonesia bagian timur, *Jurnal penelitian hasil hutan*, 10, No 4, 122-124.
- Nurhayati, N. 2000. Sifat destilat hasil destilasi kering 4 jenis kayu dan kemungkinan pemanfaatannya sebagai pestisida. *Buletin penelitian hasil hutan*, 17, No. 3, 160-168.
- Pelczar, M. J., Chan. E. C. S. 1988. *Dasar-Dasar mikrobiologi*, jilid 2. Penerjemah Hadioetomo, . S., T. Imas, S. S. Tjitrosomo, S. L. Angka. UI-Press. Jakarta, 447 - 458.
- Rizvi, S. J. H., Rizvi, V. 1992. *Allelopathy: basic and applied aspects*. Springer. ISBN 978-0-412-39400-3. Page.1-4
- Ray, B., W. E. Sandine. 1993. *Acetic, Propionic, and Lactic Acid of Starter Culture Bacteria as Biopreservatives dalam* Ray, B., Daeschel M (eds) : *Food Biopreservatives of Microbial Origin*. CRC Press. Boca Raton. Pp : 103-132.
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press Boca Raton. Pp :409 416.
- Soetarno, S. 1994. *Kimia pestisida nabati dan teknik pembuatan sediaan pestisida nabati*. PAU Hayati ITB. Bandung, 56 - 58.
- Vickery, L. M., Vickery, B. 1981. *Secondary plant metabolism*. The Macmillan Press Ltd. London, pp 1-307.